Aus dem Institut für Humangenetik
mit Genetischer Poliklinik
(Direktor: Prof. Dr. med. G. G. Wendt)

ABNORME LIPOPROTEINE BEI LEBERERKRANKUNGEN: VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNG

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

HANS - JOACHIM MAASS
aus Stuttgart

Marburg 1978

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus dem Institut für Humangenetik
mit Genetischer Poliklinik
(Direktor: Prof. Dr. med. G. G. Wendt)

ABNORME LIPOPROTEINE BEI LEBERERKRANKUNGEN: VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNG

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

HANS - JOACHIM MAASS

aus Stuttgart

Marburg 1978

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg am: 5. Mai 1978
gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan: Prof.Dr. F. Neurath
Referent: Dr.med.habil. G. Utermann
Correferent: Prof. Dr. H. Bernhardt

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A	Einführung	1
	a) Allgemeines über Lipoproteine	1
	b) Abnorme Lipoproteine bei Cholestase: LP-X und LP-E	3
B	Fragestellung	9
C	Material und Methoden	1o
D	Ergebnisse	15
E	Diskussion	3o
F	Zusammenfassung	39
	Literaturverzeichnis	4o

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546009_0011

A Einführung

a) Lipoproteine

Die im Blut auftretenden Fette sind nur durch Bindung an bestimmte Proteine löslich. Diese makromolekularen Komplexe werden als Lipoproteine bezeichnet. Als Transportpartikel exogener und endogener Lipide spielen die Lipoproteine im Stoffwechsel der Nahrungs- und Körperdepotfette eine Schlüsselrolle.

Die Lipid-Anteile der verschiedenen Lipoproteine zeigen charakteristische Verteilungsmuster. Die Lipoproteine lassen sich beim Stoffwechselgesunden durch physiko-chemische Methoden in vier Gruppen unterteilen:

1. Chylomikronen

Chylomikronen transportieren exogene Lipide und stellen die Fraktion mit der geringsten Dichte und dem größten Lipidanteil dar. Die Partikel bestehen aus einem milchartigen Kern aus Triglyceriden, der von einem membranartigen Mantel umschlossen ist und sich aus folgenden Bestandteilen zusammensetzt:

Phospholipide	4%
Protein	1%

Der Proteinanteil besteht aus den Apoproteinen B und C, die sehr wahrscheinlich in der Darmschleimhaut synthetisiert werden. Die Größe der Chylomikronen schwankt zwischen 1ooo - 1oooo A, ihre Dichte zwischen o,9o - o,94 g/ml

2. Very-Low-Density-lipoproteine: VLDL

Die VLDL-Klasse enthält Partikel, die gegenüber den Chylomikronen einen höheren Proteinanteil haben, 5 - 1o % (Gewichtsanteil), der aus den Apoproteinen B, C und E besteht.

Die VLDL werden in der Leber synthetisiert und transportieren endogene, in der Leber gebildete Triglyceride. Die Größe der VLDL liegt zwischen 3oo - 7oo A. In der Elektrophorese bilden die VLDL eine separate Bande, die wegen ihrer räumlichen Nachbarschaft zu den ß-Lipoproteinen als "Prä-ß" bezeichnet wird. Das Dichte-Spektrum der VLDL reicht von o,94o - 1.oo6 g/ml.

3. Low-Density-Lipoproteine: LDL

Diese Fraktion der Lipoproteine hat einen Eiweißanteil von 25% (Gewichtsanteil). Die LDL enthalten den größten Teil des Transport-Cholesterins:

42% Transportcholesterin
8% davon freies Cholesterin
22% Phospholipide
1o% Triglyceride

Ihr Durchmesser variiert wenig, ca. 2oo - 25o A. Die Dichte der LDL reicht von 1.o19 - 1.o63 g/ml. Wahrscheinlich handelt es sich um Abbauprodukte der VLDL. LDL werden in der Leber abgebaut. Der hohe Cholesteringehalt bedingt die engen Beziehungen zum intrahepatischen Cholesterinstoffwechsel.

Die Mobilität in der Elektrophorese entspricht den ß-Globulinen, deshalb: ß-Fraktion der Lipoproteine. Ihre Eiweißkomponente be-

steht aus Apoprotein B.

4. High-Density-Lipoproteine: HDL

Die Lipoproteinfraktion mit großer Dichte hat einen Proteinanteil von 45% (Gewichtsanteil) und wird ausschließlich in der Leber synthetisiert.

Nach den Flotationseigenschaften bei der Ultrazentrifugation werden zwei Unterklassen der HDL gebildet:

HDL_2 D 1.125 g/ml - 1.o63 g/ml

HDL_3 D 1.125 g/ml - 1.21 g/ml

Der Lipid-Anteil besteht zu:

2o% aus Cholesterin
3o% Phosphatide
5% Triglyceride

In der Elektrophorese zeigen die HDL α_1-Mobilität.
Der Proteinanteil setzt sich zusammen aus:
Apo A-I, Apo A-II, Apo C, Apo D in geringer Konzentration und Apo E.

b) Abnorme Lipoproteine bei Cholestase

Es ist schon lange bekannt, daß Lebererkrankungen häufig mit erheblichen Änderungen der Serumlipoproteine einhergehen. Diese Änderungen sind quantitativer und qualitativer Art.

A. FLINT (11) hat bereits vor über 1oo Jahren bei Patienten mit

Verschlußikterus einen Anstieg der Cholesterinkonzentration beobachtet. Spätere Studien der Plasmalipide bei verschiedenen Lebererkrankungen ergaben massive Veränderungen der Plasmalipide und der Lipoproteine bei Patienten mit intra- oder extrahepatischem Verschluß (2, 4, 6, 7, 8, 9, 15, 21, 26, 28, 3o, 45, 5o).

Bei Cholestase sind folgende Änderungen der Plasmalipide zu beobachten:

- Anstieg des nichtveresterten Cholesterins und der Phospholipide
- als Folge davon: Anstieg des Gesamtcholesterins
- Absinken des Cholesterin/ Phospholipid-Verhältnisses.

KUNKEL und AHRENS (19) und KUNKEL und SLATER (2o) brachten den Plasmalipidanstieg mit der ß-Globulinkonzentration in Verbindung und postulierten als erste (2, 1) einen Zusammenhang beim Verschlußikterus von Hyperlipämie und dem Anstieg der Phospholipide im Serum.

Verschiedene Autoren wiesen nach, daß die erhöhte LDL-Konzentration von einer verminderten HDL-Konzentration begleitet wird. (7, 12, 18, 13).
SWITZER konnte erstmals in LDL-Fraktionen von Patienten mit Cholestase ein abnormes Lipoprotein nachweisen (36). Er bezeichnete es als "obstructive Lipoprotein" (OLP). Dieses OLP war nicht identisch mit den ß-Lipoproteinen der Low-Density-Lipoproteinfraktion, d.h. es reagierte nicht mit Antiserum gegen normale LDL.

Dieses Lipoprotein wurde vor allem von SEIDEL et al. und HAMILTON weiter charakterisiert und von SEIDEL als LP-X bezeichnet.

Ein Teil der bei Patienten mit Cholestase beobachteten Plasmalipidveränderungen kann durch das Auftreten des abnormen LP-X erklärt werden. (36, 37, 15)

Das LP-X stellt ein Lipoprotein dar, das im Serum Gesunder nicht nachgewiesen werden kann (25). Es läßt sich der Dichte nach den Low-Density-Lipoproteinen zuordnen, unterscheidet sich jedoch von normaler LDL durch einen sehr niedrigen Proteinanteil von ca. 6% gegenüber 25% Proteinanteil normaler LDL. Er setzt sich im Gegensatz zu normaler LDL zum größten Teil aus Apoprotein C, Albumin und geringen Mengen Apoprotein A zusammen (25, 3).

Die Erhöhung der Serum-Phospholipide und des freien Cholesterins beim Verschlußikterus spiegelt sich in der Lipidzusammensetzung des LP-X wieder:

ca. 66% Phospholipide
22% freies Cholesterin

die übrigen 6% bestehen etwa je zur Hälfte aus Triglyceriden und Cholesterinester.

Zusätzlich sind an das LP-X-Molekül noch Gallensäuren angelagert. Die Partikel haben einen Durchmesser von 5oo - 8oo A (15, 41)

Die Eiweißkomponente des LP-X ist immunogen und geeignet zur Herstellung von präzipitierenden Antikörpern. Diese sind jedoch nicht spezifisch für LP-X, vielmehr kreuzreagieren die Antiseren gegen LP-X mit den in VLDL und HDL enthaltenen Apoprotein-C-Peptiden. LP-X und VDLD bzw. HDL können aber nach vorheriger elektrophoretischer Trennung immunologisch dargestellt werden.

Das elektrophoretische Verhalten von LP-X ist nicht einheitlich in allen Medien. Auf Papier, in Stärkegel und in Agarose zeigt es eine Mobilität, die der normaler ß-Lipoproteine ähnlich ist. In Agargelen bestimmter Zusammensetzung jedoch wandert es auf Grund eines endosmotischen Effekts zur Kathode. Hierin unterscheidet es sich grundlegend von allen anderen bekannten Lipoproteinen (37) und kann nach Abtrennung in diesem Medium spezifisch nachgewiesen werden.

Abb. 1:

In Startloch 1 LP-X-negative Probe. 2, 3,4 enthalten LP-X-positive Probe. Der dicht am Startloch liegende Bogen wird durch Reaktion von Antiserum mit Chylomikronen und VLDL gebildet. - Möglichkeit von Fehlinterpretationen.

Außer bei Patienten mit intra- oder extrahepatisch bedingter Cholestase tritt LP-X noch bei Patienten auf, die an einem genetisch bedingten Mangel an Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase (LCAT-Mangel) leiden. Die LCAT überträgt die Fettsäure in C-2-Position des Lecithins auf die C-3-Stellung des Cholesterins. Aus dieser Reaktion stammen ca. 8o - 9o% des Cholesterinesters im Serum. (14)

Folge des LCAT-Mangels ist: Verringerte Cholesterinveresterung, Anstieg des Gehalts an freiem Cholesterin und Lecithin in den Plasmalipoproteinen, besonders in den LDL und HDL.

Substrat der LCAT sind die HDL, sekundär werden auch die Lipidmuster der VLDL und LDL beeinflußt (16).

HDL und LCAT werden in der Leber gebildet. Daher nimmt die meßbare Aktivität der LCAT bei Lebererkrankungen häufig ab (14, 24, 23).

UTERMANN et al. fanden bei ihren Untersuchungen der HDL Fraktionen von leberkranken Patienten ein weiteres abnormes Lipoprotein (47). Es konnte isoliert werden und wurde in Anlehnung an die Nomenklatur von ALAUPOVIC (3a) Lipoprotein E (LP-E) genannt.

Dieses LP-E wurde in der HDL_2-Fraktion von leberkranken Patienten nachgewiesen, die als Folge ihrer Lebererkrankung einen sekundären LCAT-Mangel aufwiesen, sowie bei Patienten mit familiärem LCAT-Mangel. Zusätzlich zu den normalen Proteinbausteinen der HDL (Apoprotein A-I, Apoprotein A-II und Apoprotein C) enthielten die abnormen HDL_2 eine Hauptkomponente mit einem Molekulargewicht (MG) von etwa 4o ooo.

Eine Polypeptidkomponente mit gleichem MG wurde als Hauptbestandteil in normaler VLDL gefunden, zusätzlich zu den bekannten Apoproteinen B und C in dieser Fraktion, nicht jedoch in normaler HDL. Dieses Protein wurde als Apoprotein-E bezeichnet. Ein Antiserum gegen Apo-E aus VLDL zeigte in der Immunelektrophorese mit normalem Humanserum einen Präzipitationsbogen in Position der prä-ß-Lipoproteine (VLDL). Bei Seren von Patienten mit primärem oder sekundärem LCAT-Mangel trat ein zusätzlicher Präzipitationsbogen zwischen der prä-ß- und der α_1-Position auf. (Abb. 1 a)

Offensichtlich sind das Apo-E der VLDL und das Hauptpolypeptid der abnormen HDL nicht nur in ihrem Molekulargewicht von 4o ooo sondern auch immunologisch identisch. Ein Auftreten in HDL_2 ist ein Indiz für LCAT-Mangel (46).

Voruntersuchungen von normalem Humanserum mit dem Antiserum gegen Apoprotein-E (Anti-Apo-E) zeigte in keinem Fall eine der abnormen HDL entsprechende Reaktion, während bei Untersuchungen von Patientenseren mit verschiedenartigen Lebererkrankungen teilweise positive Reaktionen zu beobachten waren (46).

Ein Ziel dieser Arbeit ist es, die mögliche Bedeutung des LP-E-Nachweises für die Diagnostik von Lebererkrankungen zu untersuchen.

Abb. 1 a:

In Startloch A war eine Serumprobe von normalem Humanserum: der Präzipitationsbogen liegt in Position der prä-ß-Lipoproteine (VLDL)
Der zusätzliche Präzipitationsbogen über B entstammt der Reaktion von Anti-Apo-E und Apoprotein E: LP-E positives Serum.

B Fragestellung

Bei Lebererkrankungen treten im Serum verschiedene abnorme Lipoproteine auf (34, 27, 29). Am besten charakterisiert ist das Lipoprotein-X (LP-X). Es handelt sich dabei um ein abnormes Low-Density-Lipoprotein. Dieses ausschließlich bei Cholestase vorkommende Lipoprotein soll eine hohe diagnostische Spezifität besitzen (35, 37, 38, 39, 48, 1o). Der Nachweis von Lipoprotein-X erfolgt nach elektrophoretischer Auftrennung des Serums durch:

a) Präzipitation mit spezifischen Immunseren (35-38)
b) Präzipitation mit Polyanionen (35-38)

Ein weiteres abnormes Lipoprotein wurde kürzlich aus dem Serum leberkranker Patienten isoliert und als Lipoprotein-E (LP-E) bezeichnet. Es handelt sich dabei um ein abnormes Lipoprotein der High-Density-Lipoprotein-Fraktion. Der Nachweis von Lipoprotein-E erfolgt mit Hilfe spezifischen Antiserums gegen Apoprotein E durch Immunelektrophorese.

Ob LP-E ebenso wie LP-X Bedeutung für die Diagnostik der Lebererkrankungen zukommt, ist bisher noch nicht untersucht worden. Mit der vorliegenden Arbeit soll geprüft werden:

1) Eine vereinfachte, nicht immunologische Methode zum Nachweis des LP-X.
2) Die Spezifität des LP-X-Tests durch Untersuchung von Patienten, bei denen eine Cholestase anatomisch und/oder histologisch gesichert, bzw. ausgeschlossen werden konnte.
3) Die mögliche Bedeutung des LP-E-Nachweises für die Diagnostik von Lebererkrankungen durch Untersuchung von Patienten mit verschiedenen Formen von Lebererkrankungen.

C Material und Methoden

Untersuchungsmaterial

Für die Bestimmung von LP-E und LP-X wurde das Serum von insgesamt 18o Patienten mit verschiedenen Ikterusformen untersucht. Der größte Teil dieser Seren stammte aus der Medizinischen und der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg. Die übrigen Seren wurden mir freundlicherweise vom Kreiskrankenhaus Frankenberg/Eder und von dem Diakonie-Krankenhaus Wehrda zur Verfügung gestellt. Die entsprechenden Untersuchungsbefunde wurden dort in der Zeit von April 1974 bis Juni 1975 erhoben. Alle Proben wurden nach 1o - 12 stündigem Fasten abgenommen.

Von den 53 Kontrollseren stammten 29 aus der Blutbank Marburg von gesunden Blutspendern, 24 kamen aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Marburg von hyperlipämischen Personen, die in Bezug auf Lebererkrankungen (wie Hepatitis, Cholestase, Leberzirrhose, extrahepatischer Verschluß) als gesunde Testpersonen anzusehen sind. Auch diese Proben wurden nach 8 - 1o stündigem Fasten abgenommen.

Die zur Untersuchung gelangten Proben waren weder gefroren noch stark hämolytisch. Sofern ein sofortiges Aufarbeiten der Proben nicht möglich war, wurden die Seren bis zur Elektrophorese luftdicht verschlossen bei 4 bis 8°C wenige Tage aufbewahrt. Die von außerhalb Marburgs kommenden Seren wurden auf kürzestem Wege per PKW nach Marburg transportiert.
Zum immunologischen Nachweis von LP-X und LP-E wurde spezifisches Heteroantiserum von Kaninchen gegen menschliches Apoprotein C bzw. Apoprotein E benutzt. Antiseren wurden von Dr. Utermann zur Verfügung gestellt.

Versuchsdurchführung

Die Immunelektrophorese wurde in der Mikromodifikation nach Scheidegger ausgeführt. 1o Objektträger, 2,5 x 7,5 cm, beschichtet mit je 3 ml Agargel wurden in einem Versuch untersucht. Die elektrophoretische Trennung wurde bei einer konstanten Spannung von 11o V und 1o mA durchgeführt. Um beim LP-E-Test eine ausreichende Auftrennung zu erreichen, war eine Laufzeit von 9o - 12o Minuten erforderlich. Zur Eindämmung der Wärmeentwicklung und um das Eintrocknen der Serumproben bzw. des Gels zu vermeiden, wurde zwischen die Elektrophoresekammern eine tiefgekühlte Eiskammer gestellt. Alle drei Kammern wurden während der Elektrophorese abgedeckt. Zusätzlich wurde darüber noch ein feuchtes Tuch gebreitet. Die Laufzeit für den LP-X-Test betrug zwischen 4o und 6o Minuten bei gleicher Spannung und Stromstärke wie dem LP-E-Test.

Als Trägermaterial für den immunologischen LP-X-Test wurde ausschließlich 1%-iger Difco-Bacto-Agar (Behring-Werke Nr. o14o-o1) in einem o,1o mol/l Na-Veronal-Acetat-Puffer pH 8,6, verwendet. Als Elektrophoresepuffer wurde Barbitalveronalpuffer o,o5 mol/l pH 8,6 verwendet. Dieser Puffer wurde hergestellt aus 1,84 g Diäthylbarbitursäure, 1o,3o g Diäthylbarbitursäure-Na-Salz, aufgefüllt auf 1ooo ml mit aqua bidest. Der pH wurde mit o,1 molarer HCl eingestellt und anschließend wurde auf 1ooo ml aufgefüllt. Um den erforderlichen Elektrophoresepuffer der Ionenstärke u = o,o5 zu erhalten, wurde der o,1 molare Puffer im Verhältnis 1:1 mit aqua bidest gemischt.

Zur Herstellung des 1%-igen Difco-Bacto-Agars wurden 1oo ml o,1 molaren Puffers mit 1 g Difco-Bacto-Agar vermischt und unter

ständigem Rühren solange im Wasserbad erhitzt, bis die Flüssigkeit völlige Klarheit erlangt hatte. Während des Abkühlens im Wasserbad wurden 1oo mg Natriumacid zugegeben. Die entfetteten Objektträger wurden exakt in die Horizontale gebracht und mit einer vorgewärmten Pipette wurden je 3 ml Agar aufgetragen. Nach dem Erstarren zum Gel wurden die Objektträger für mindestens 12 Stunden in einer feuchten Kammer bei ca. 4°C gelagert. Das Höchstalter vorgegossener Platten betrug 8 Tage. Vergleichende Untersuchungen haben ergeben, daß die Ergebnisse auf länger gelagerten Platten (2 - 8 Tage) deutlicher, bzw. schärfer gezeichnet waren als auf Platten, die kürzer gelagert waren (12 - 36 h). Die zu untersuchenden Serumproben wurden in Löcher mit 2,2 mm Durchmesser eingefüllt, was ca. 8 µl Serum entspricht. Auf einen Objektträger wurden bis zu vier Antigenlöcher gestanzt. Nach der elektrophoretischen Trennung wurden 1o µl Antiserum kathodenwärts der Antigenlöcher so auf das Gel aufgetropft, daß die Antigenlöcher nicht vom Antiserum erreicht wurden. In einer feuchten Kammer fand die Immundiffusion bei +37°C statt. Nach 3o', 6o' und 12o' Inkubationszeit wurden die Platten abgelesen und die Ergebnisse protokolliert. Zur Kontrolle wurde bei jedem Elektrophoreselauf ein LP-X-negatives Normalserum mitgetestet.

Der vorgefärbte LP-X-Test unterscheidet sich lediglich in zwei Punkten vom immunologischen LP-X-Test.
Zunächst mußten die Serumproben vorgefärbt werden. Dazu wurden zehn Teilen Serum drei Teile Sudanschwarz B in Polyäthylenglykoll zugesetzt und nachdem diese Mischung mit Stickstoff überschichtet und luftdicht verschlossen worden war, wurde sie eine Stunde lang bei Raumtemperatur ins Dunkle gestellt. Das Ausstanzen und Füllen der Antigenlöcher entsprach dem immunologischen LP-X-Test, der Elektrophoreselauf selbst fand immer

parallel statt. Nach Beendigung dieses Laufes konnte man ohne den Umweg über die Immundiffusion direkt das Ergebnis ablesen: das vorgefärbte LP-X war kathodenwärts gewandert. Der immunologische Nachweis war auch an vorgefärbten Seren möglich. Auf dieser Grundlage wurde die Identität aller vorgefärbten, kathodenwärts laufenden Banden, die das LP-X enthielten, mit Hilfe der spezifischen Immunpräzipitation geprüft.

Der LP-E-Test beruht auf der Standardimmunelektrophoresetechnik nach SCHEIDEGGER (32) in der Mikromodifikation (25). Als Trägermaterial wurde 2%-ige Agarose (Behringwerke) verwendet. Zur Herstellung der 2%-igen Agarose wurden 2 g Agarose in einer Mischung von 5o ml Diäthylbarbiturat-Acetat-Pufferlösung (pH: 8,2 , μ o,1) und 5o ml H_2O bis zur Bildung einer klaren Lösung im Wasserbad erhitzt. 1o mg Merthiolat pro 1oo ml Agarose wurden zur Konservierung zugesetzt. Das Beschichten der Objektträger mit Agarose entspricht dem der LP-X-Platten mit 1%-igem Difco-Bacto-Agar. Zur Herstellung des Diäthylbarbiturat-Acetatpuffers wurden 133,8 g Na-Diäthylbarbiturat und 88,3 g Na-Acetat-Trihydrat in 1o l H_2O gelöst. Mit o,1 n HCl wurde der pH auf 8,2 eingestellt. Diese Lösung hat eine Ionenstärke von μ = o,15. Da für den Elektrophoresepuffer eine Ionenstärke von μ = o,1 nötig ist, wurde zu 2 Teilen Pufferlösung der Stärke o,15 1 Teil H_2O zugesetzt.

Aus den mindestens 24 Stunden abgelagerten agarosebeschichteten Platten wurden unmittelbar vor der Elektrophorese 1,3 mm Ø große Startlöcher und der 1,5 x 37 mm messende Antiserumtrog gestanzt. Die Startlöcher hatten einen seitlichen Abstand von 4 mm vom Rand des Antiserumtrogs. Nach der Elektrophorese wurde der Trog bis zum Rand mit Antiserum gefüllt, die Platte in der feuchten Kammer bei 37°C inkubiert. Die Reaktion wurde im Durchlicht

nach 12 und 24 - 36 Stunden abgelesen und protokolliert. Die Platten wurden danach 24 Stunden in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, anschließend mit aqua dest. abgespült. Unter feuchtem Filterpapier trocknete das Gel auf die Platte auf. Die spezifischen Immunpräzipitate wurden mit Amidoschwarz angefärbt.

D Ergebnisse

1) Vergleich des immunologischen LP-X-Tests mit dem LP-X-Nachweis nach Vorfärben.

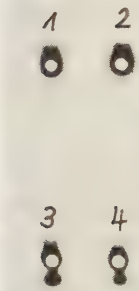
Von 18o Seren, die auf LP-X immunologisch und durch Nachweis nach Vorfärben untersucht worden sind, traten in vier Fällen unterschiedliche Ergebnisse auf. In allen vier Fällen zeigte der LP-X-Test nach Vorfärben ein positives, der immunologische jedoch ein negatives Ergebnis. Bei den Seren handelte es sich ausschließlich um pathologische Seren (von Patienten mit Hepatitis, Leberzirrhose, Cholestase oder extrahepatischem Verschluß).

Diese vier nichtübereinstimmenden Ergebnisse entsprechen einem Prozentsatz von 2%. Von den ebenfalls nach beiden Methoden getesteten Normalseren stimmten sämtliche Ergebnisse überein. In keinem Fall trat eine positive Reaktion auf.

Bezieht man die nichtübereinstimmenden Testergebnisse auf beide Gruppen, so ergibt sich ein Prozentsatz von 1,7%.

Abb. 2: (A)

Abb. 3: (B)



Die Aufnahmen A und B zeigen Ergebnisse des LP-X-Tests:

A nach dem immunologischen Verfahren, B nach der Methode durch Vorfärben.

In den entsprechenden Startlöchern ist das gleiche Serum.

Bei Startloch 4 zeigt der immunologische Test ein negatives Ergebnis, der Test nach Vorfärben jedoch ein positives.

2) Spezifität von LP-X für Cholestase

Von 54 histologisch oder anatomisch gesicherten Fällen einer Cholestase war LP-X einmal nicht nachzuweisen. Dies entspricht einem Prozentsatz von 1,9% und bedeutet, daß eine Cholestase in ca. 98% der Fälle durch den LP-X-Test nachgewiesen werden könnte, LP-X somit eine hohe Cholestase-Spezifität aufweist.

Umgekehrt zeigte der LP-X-Test in 12 von 13 Fällen einer Lebererkrankung, die histologisch keine Cholestase aufwiesen, ein negatives, in einem Fall ein positives Ergebnis (8%).

Faßt man diese beiden Gruppen zusammen und setzt das Ergebnis des LP-X-Tests in Relation zu den anatomischen/histologischen Befunden, so ergibt sich ein Prozentsatz von 97%, d.h. in 97% der Fälle stimmte histologischer/anatomischer Befund und LP-X-Test überein.

3) Spezifität von LP-E für Cholestase

In 51 von 54 histologisch/anatomisch gesicherten Fällen von Cholestase war LP-E nachzuweisen (94%).

In allen 13 Fällen von Lebererkrankungen, die histologisch keine Cholestase aufwiesen, war das Ergebnis des LP-E-Tests negativ. Für beide Gruppen zusammengefaßt ergibt dies einen Prozentsatz von 95,5%, in denen histologischer/anatomischer Befund und LP-E-Test übereinstimmen.

4) Vergleich der Ergebnisse des LP-X- mit denen des LP-E-Tests bei extrahepatischem Verschluß.

In Tabelle 1 sind alle Fälle zusammengestellt, bei denen ein extrahepatischer Verschluß anatomisch nachgewiesen werden konnte.

Von diesen 36 Patienten wiesen 86% (31 Patienten) in den Ergebnissen Übereinstimmung von LP-X- und LP-E-Test auf. Untergliedert man die Gesamtgruppe in Verschlüsse gleicher Ätiologie, so ergibt sich folgende Verteilung:

100% Übereinstimmung der Ergebnisse bei Verschlüssen durch Tumor

92% der durch Steine hervorgerufenen Verschlüsse stimmten im Ergebnis von LP-X- und LP-E-Test überein.

100% Übereinstimmung der Ergebnisse bei Atresie

83% Übereinstimmung der Ergebnisse bei Verschlüssen durch Stein

Die letzte Gruppe von Tabelle 1 enthält extrahepatische Verschlüsse, anatomisch nachgewiesen, die für unsere Untersuchungen jedoch als Sonderfälle zu betrachten sind. Es handelt sich dabei in einem Fall um einen Verschluß mit Fistelbildung zum Quercolon, in einem anderen Fall um einen Verschluß mit Perforation der Gallenblase und im 3. Fall um einen intermittierenden Verschluß, über dessen Akuität zum Zeitpunkt der Untersuchung sich nur Spekulationen erheben lassen.

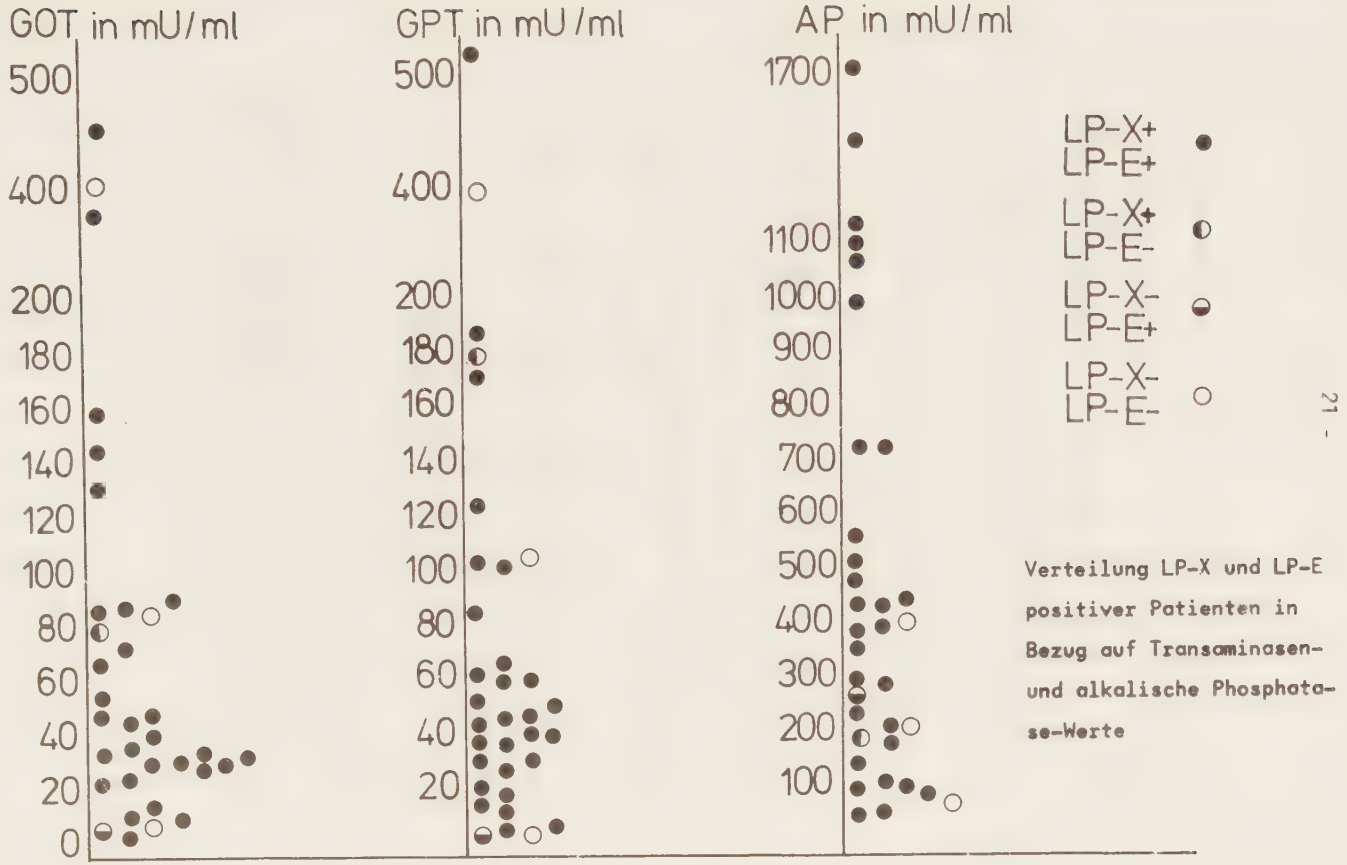
Für die Aussage über die Cholestase-Spezifität von LP-X und LP-E wurde deshalb auf diese 3 Fälle verzichtet.

Tabelle 2 zeigt die graphische Dastellung der Ergebnisse des LP-X und LP-E-Tests in Relation zu den Transaminasewerten GOT und GPT und den alkalischen Phosphatasewerten AP.
In der überwiegenden Zahl der Fälle sind die Transaminasen stark erhöht, ebenso die alkalische Phosphatase.

Tabelle 1

Verschluß durch	n	LP-X+ LP-E+	LP-X+ LP-E-	LP-X- LP-E+	LP-X- LP-E-
Tumor	13	13	0	0	0
Stein	13	12	1	0	0
Stenose	6	5	0	0	1
Atresie	1	1	0	0	0
Sonderfälle	3	0	1	0	2
total	36	31	2	0	3

Ergebnisse des LP-X- und LP-E-Nachweises bei Patienten mit anatomisch nachgewiesenem extrahepatischen Verschluß.



Jeder Punkt repräsentiert einen Patienten

Verteilung LP-X und LP-E positiver Patienten in Bezug auf Transaminasen- und alkalische Phosphatase-Werte

5) Vergleich der Ergebnisse von LP-X und LP-E-Test bei Hepatitis

Von den 46 Patienten mit eindeutiger Hepatitis (Tabelle 3) lag in 28% ein histologischer Befund vor. In sämtlichen Fällen einer histologisch gesicherten Cholestase waren LP-E und LP-X positiv.

Bei dem einen Fall von Hepatitis, histologisch ohne Cholestase, waren LP-X und LP-E negativ.

Von 27 akuten Hepatitisfällen (klinisch gesichert) wiesen 55,5% positives LP-X und LP-E auf, in 22% waren beide Tests negativ. In 18,5% war allein LP-E, in 4% allein LP-X positiv.

In allen Fällen chronischer Hepatitis (ohne histologischen Befund) zeigten LP-X- und LP-E-Test ein negatives Ergebnis.

Tabelle 4 zeigt die graphische Darstellung der Ergebnisse des LP-E-Tests bei Hepatitis-Patienten in Relation zu den Transaminasewerten GOT und GPT in mU/ml.
Analog zu Tabelle 4 enthält Tabelle 5 die graphische Darstellung der Ergebnisse des LP-X-Tests.

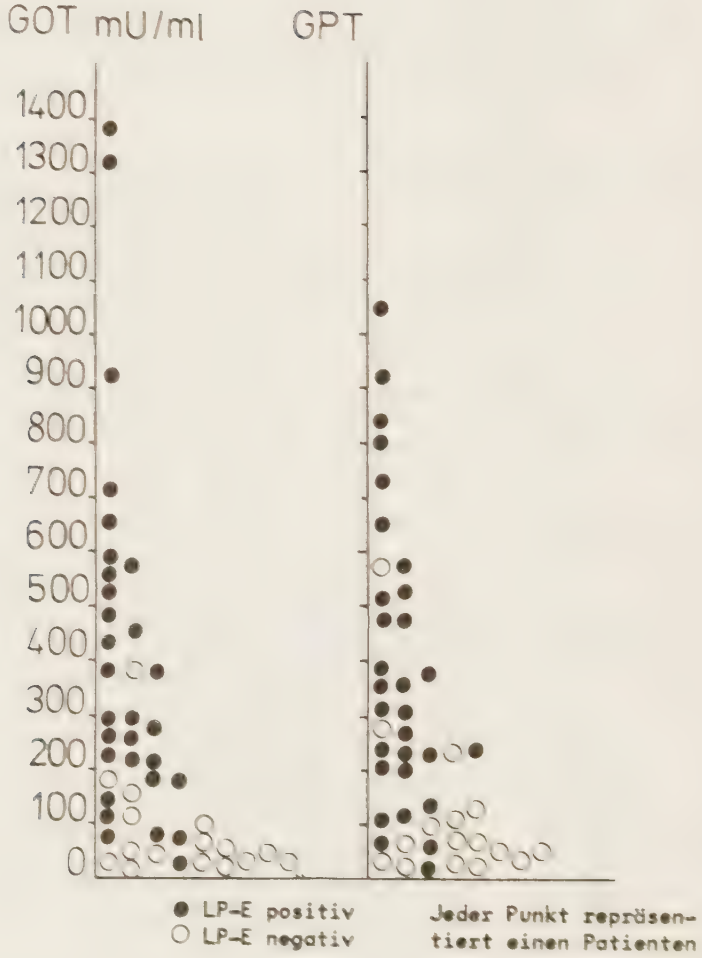
Dabei zeigte sich, daß bei GOT-/GPT-Werten über 2oo mU/ml LP-X bzw. LP-E positiv waren, alle negativen unter 2oo mU/ml. Das heißt, das Auftreten der abnormen Lipoproteine korreliert mit dem Schweregrad der Lebererkrankung.

Tabelle 3

	n	LP-X+ LP-E+	LP-X+ LP-E-	LP-X- LP-E+	LP-X- LP-E-
akute Hepatitis mit Cholestase histologisch gesichert	12	12	0	0	0
akute Hepatitis ohne Cholestase histologisch gesichert	1	0	0	0	1
akute Hepatitis klin. gesichert ohne histologischen Befund	27	15	1	5	6
chronische Hepatitis ohne histologischen Befund	6	0	0	0	6
total	46	27	1	5	13

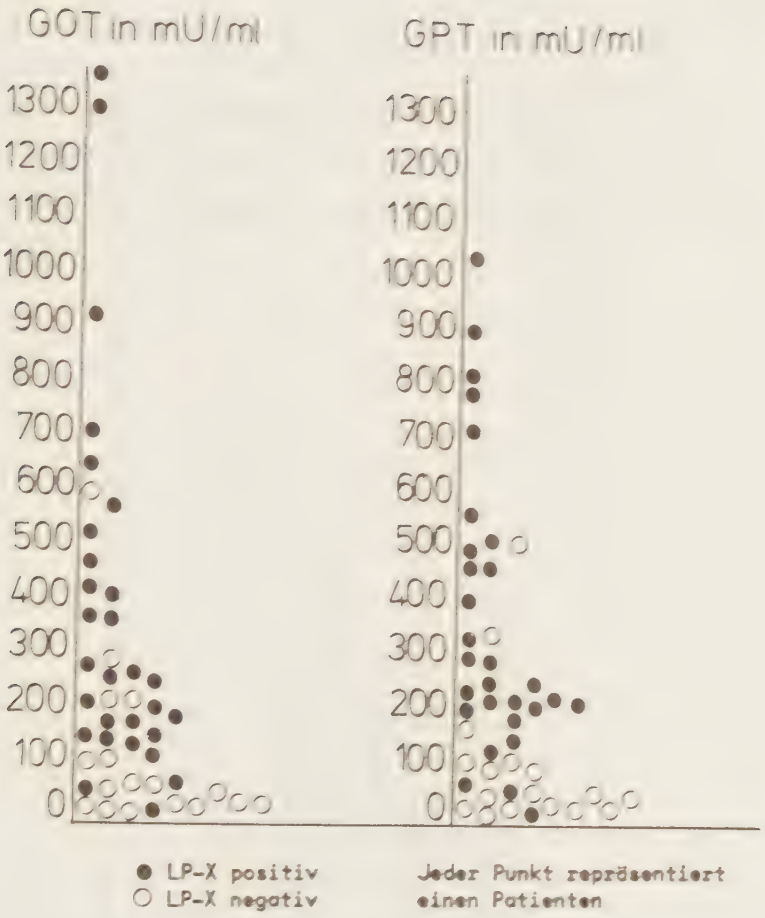
Ergebnisse des LP-X- und LP-E-Nachweises bei 46 Patienten mit Hepatitis

Tabelle 4



Ergebnisse des LP-E-Tests bei Hepatitis-Patienten in Relazu den Transaminasenwerten.

Tabelle 5



Ergebnisse des LP-X-Tests bei Hepatitis-Patienten in Bezug auf die Transaminasenwerte.

Tabelle 6

	n	LP-X+ LP-E+	LP-X+ LP-E-	LP-X- LP-E+	LP-X- LP-E-
Leberzirrhose mit Cholestase histologisch gesichert	9	8	1	0	0
Leberzirrhose ohne Cholestase histologisch gesichert	10	0	0	1	9
Leberzirrhose klin. gesichert ohne histol. Befund	12	1	1	1	9
total	31	9	2	2	18

Ergebnisse des LP-X- und LP-E-Nachweises bei 31 Patienten mit Leberzirrhose

In 19 von 31 Fällen mit Leberzirrhose lag ein histologischer Befund vor, die übrigen 12 Fälle waren klinisch eindeutig gesichert. In der Gruppe der histologisch gesicherten Leberzirrhose entsprach das Ergebnis des LP-X-Tests in allen Fällen dem anatomischen Befund. Das heißt, bei histologisch nachgewiesener, intrahepatischer Cholestase war LP-X positiv, bei Ausschluß einer intrahepatischen Cholestase war LP-X negativ. (Tabelle 6)

Der LP-E-Test entsprach in ca. 95% der Fälle dem histologischen Befund.

In Tabelle 7 sind alle Fälle zusammengestellt, bei denen histologisch oder anatomisch

a) eine Cholestase nachgewiesen werden konnte

b) eine Cholestase ausgeschlossen werden konnte.

Die Testergebnisse des LP-X-Tests entsprachen in ca. 94% dem anatomischen/histologischen Befund, die des LP-E-Tests in ca. 89%.

Tabelle 7

		LP-X+ LP-E+	LP-X+ LP-E-	LP-X- LP-E+	LP-X- LP-E-
akute Hepatitis mit Cholestase histol. gesichert	12	12	0	0	0
akute Hepatitis ohne Cholestase histol. gesichert	3	0	1	1	1
Leberzirrhose mit Cholestase histol. gesichert	9	8	1	0	0
Leberzirrhose ohne Cholestase histol. gesichert	10	0	0	1	9
extrahep. Verschluß mit Cholestase anatom. gesichert	33	31	1	0	1
extrahep. Verschluß mit Fistel/Perforation anatom. gesichert	3	0	1	0	2
total	70	51	4	2	13

Zusammenfassung aus Tabelle 1, 3 und 6. Alle histologisch und anatomisch gesicherten Verschlüsse.

E Diskussion

Der Verschlußikterus beruht auf einer generellen Störung der Gallenausscheidung und führt neben der Retention von Bilirubin auch zu einer Retention von Gallensäuren und anderen Gallenbestandteilen, wie Cholesterin und alkalischer Serumphosphatase. Biochemisch ist die Cholestase gekennzeichnet durch Retention von konjugiertem Bilirubin, alkalischer Phosphatase und Cholesterin im Plasma. Jede Cholestase beruht letztlich auf einer Schädigung des gallensezernierenden Apparates der Leberzelle, die ausgelöst werden kann durch eine primär toxische Schädigung der Leberzelle oder sekundär durch einen verhinderten Gallenabfluß bei mechanischem Hindernis (33).

Die Diagnose des cholestatisch bedingten Ikterus ist häufig nicht eindeutig zu stellen und oft nur mit Hilfe verschiedener Parameter möglich. Neben Anamnese und klinischem Befund werden blutchemische, röntgenologische, biologische und laparoskopische Untersuchungsmethoden zur Differentialdiagnose herangezogen. Der cholestatische Ikterus ist dabei meistens durch eine deutliche Erhöhung der alkalischen Phosphatase, der Leucinaminopeptidase, gering erhöhte Transaminasenwerte (GOT, GPT) und normales Serumeisen gekennzeichnet. Die Plasmalipidverschiebungen bei der Cholestase imponieren durch eine Erhöhung des Gesamtcholesterins und das Auftreten abnormer Lipoproteine: LP-X und das erst seit kurzem identifizierte LP-E.

1) Vergleich der Ergebnisse des immunologischen LP-X-Tests mit denen des LP-X-Nachweises nach Sudanschwarz-Vorfärbung.

Immer wieder Schwierigkeiten bereitet es, beim immunologischen LP-X-Test unspezifische von spezifischen Reaktionen abzugrenzen. Diese unspezifischen Reaktionen können dadurch auftreten, daß bei der Elektrophorese Chylomikronen und VLDL am Startloch verharren. Da das Antiserum gegen LP-X nicht LP-X-spezifisch, sondern Anti-Apo-C ist und Apoprotein-C den Hauptpart des Proteinanteils der Chylomikronen und der VLDL bildet, kann es zur Immunpräzipitation kommen, wenn das Antiserum vor der Auftragsstelle bis zum Startloch diffundiert ist. Das tritt besonders dann auf, wenn es sich um hyperlipämische Seren handelt.

Diese Unsicherheit ist beim LP-X-Nachweis nach Sudanschwarz-Vorfärbung nicht gegeben und darin ist dieses Verfahren dem immunologischen Test überlegen. Da es sich bei der Färbung um eine Lipidfärbung handelt, wird die Möglichkeit einer solchen Fehlinterpretation ausgeschaltet. Das in seinem Lipidanteil angefärbte LP-X läuft bei der Elektrophorese kathodenwärts und ist dabei direkt zu verfolgen und nach der Elektrophorese sofort, ohne weitere Darstellungsmechanismen deutlich abzulesen. Hinzu kommt, daß dieses Verfahren wegen der entfallenden Inkubationsdauer weniger Zeit in Anspruch nimmt und daß man vor allen Dingen auf das kostbare spezifische Antiserum verzichten kann.

Beim Vergleich der beiden Tests an 180 pathologischen Seren traten in 4 Fällen unterschiedliche Ergebnisse auf. Bei allen 4 Abweichungen war jeweils der immunologische LP-X-Test negativ, der entsprechende Test mit der Sudanschwarz-Vorfärbung jedoch positiv. Auch die immunologische Kontrolle dieser Test-

ergebnisse bestätigte nur die vorausgegangenen Resultate: es wurden keine Präzipitationsbogen sichtbar. Wichtig ist hierbei, daß die Nachweise nach Sudanschwarz-Vorfärbung recht schwach sichtbar und zum Teil nicht scharf begrenzt waren. Trotzdem legt dies den Schluß nahe, daß der LP-X-Nachweis durch Sudanschwarz-Vorfärbung das empfindlichere von beiden Testverfahren ist.

Beim Vergleich der Ergebnisse des LP-X-Tests mit anderen Untersuchungen zeigen sich in Bezug auf die Cholestasespezifität deutliche Unterschiede bei den verschiedenen Gruppen.

Während in einer großen Untersuchung von SEIDEL et al. (38) bei sämtlichen extrahepatischen Verschlüssen der LP-X-Test positiv ausgefallen ist, wiesen nur 76% der extrahepatischen Verschlüsse bei einer Untersuchungsreihe von VERGANI (48) einen positiven LP-X-Test auf. Allerdings wurden dieses Tests nach einem anderen Verfahren durchgeführt, nicht nach der Präzipitation mit spezifischen Immunseren, sondern mit Hilfe eines industriell vorgefertigten Tests (Rapidophor) der auf der Präzipitation mit Polyanionen beruht. Untersuchungen von FISCHER et al. (1o) ergaben bei Verschlüssen durch Tumoren mit histologisch gesicherter Cholestase in 88% der Fälle einen positiven LP-X-Test.

Trotz eindeutig gesicherten anatomischen Befundes war bei unseren Untersuchungen der LP-X-Test in 92% der Fälle positiv. Um Zufälligkeiten auszuschließen, wurden die Seren, bei denen aufgrund der Diagnose, bzw. des Operationsbefundes ein positives Ergebnis erwartet wurde, in einem zweiten Versuch getestet, wobei sich in sämtlichen Fällen das erste Ergebnis wiederholt hat. (Tabelle 8)

Tabelle 8

	Seidel et al.	Vergani et al.	Fischer et al.	eigene Untersuchg.
LP-X+	83	27	17	35
LP-X-	0	9	2	1

Vergleich der Ergebnisse des LP-X-Tests verschiedener Untersuchungen bei extrahepatischem Verschluß.

Eine wesentlich größere Streuung der Ergebnisse ist bei den intrahepatischen Verschlüssen zu verzeichnen. In der Untersuchung von SEIDEL et al. (38) war der LP-X-Test in der gesamten Hepatitis-Gruppe in 16% der Fälle positiv.

Bei unseren Untersuchungen waren es 6o%, was jedoch wegen der Verteilung der verschiedenen Hepatitiden keinen großen Aussagewert hat. Bei den histologisch gesicherten Hepatitiden mit Cholestase stehen 46% LP-X-positive der Seidel-Untersuchung 1oo% bei unserer Arbeit gegenüber. Jedoch auch diese Vergleichszahlen sind zu relativieren, da histologisch nachgewiesene Cholestasen im Schweregrad sehr unterschiedlich sein können, z.B. vereinzelte Gallenzylinder in den initialen Gallenröhrchen gegenüber massiven Gallenpfropfen in den Gallengängen lassen einen großen Spielraum für die Interpretation des Befundes zu: was ist noch "Cholestase" und was gerade nicht mehr. Aus dem gleichen Grund gehen auch die Literaturangaben über die Häufigkeit von Hepatitiden mit cholestatischem Einschlag stark auseinander (49, 32).
Bei VERGANI et al. (48) waren 61% der gesamten Hepatitiden LP-X-positiv, wobei allerdings eine andere Gruppeneinteilung gewählt worden ist, so daß ein detaillierter Vergleich mit unseren Untersuchungen nicht möglich ist. Bei den Hepatitiden mit intrahepatischer Cholestase waren 71% LP-X-positiv (SEIDEL: 46%). Bei FISCHER et al. (1o) war in 79% der Fälle (Leberparenchymschäden verschiedener Genese und verschiedener Gallenwegsaffektionen) mit histologisch gesicherter Cholestase LP-X-positiv.

Während bei den Untersuchungen von SEIDEL et al. 1oo% der Leberzirrhosen mit histologisch gesicherter Cholestase LP-X-positiv und 1oo% der Leberzirrhosen ohne Cholestase LP-X-negativ sind,

zeigen rund 66% der Leberzirrhosen mit intrahepatischer Cholestase bei VERGANI et al. ein positives LP-X. In 31% der Leberzirrhosen ohne Cholestase war der LP-X-Test ebenfalls positiv.

Bei unserer Untersuchung war in 96% der klinisch gesicherten Leberzirrhosen LP-X positiv.

2) Vergleich der Ergebnisse des LP-X- mit denen des LP-E-Tests. - Die mögliche Bedeutung des LP-E-Nachweises für die Diagnostik von Lebererkrankungen.

Unsere Untersuchungen haben ebenso wie die von anderen Gruppen (38, 48, 1o) durchgeführten Versuche eine hohe Cholestasespezifität des LP-X gezeigt. In direktem Vergleich zu LP-X wies der LP-E-Test eine ähnlich hohe Cholestasespezifität auf, doch auch mit dem LP-E-Test läßt sich der intrahepatische vom extrahepatischen Verschluß nicht unterscheiden.

Untergliedert man die beiden übergeordneten Gruppen extrahepatische - intrahepatische Verschlüsse, so ergibt sich folgende Verteilung der positiven, bzw. negativen Ergebnisse des LP-X- und LP-E-Tests. (Tabelle 9)

Tabelle 9

		n	LP-X+ in%	LP-E+ in%
extra-hepatische Verschlüsse	Verschluß durch Tumor	13	100	100
	" " Stein	13	100	92
	" " Stenose	6	83	83
	Gallengangsatresie	1	100	100
	Verschl. mit Fistel/Perforation	3	33	0
intra-hepatische Verschlüsse	Hepatitis mit Cholestase	12	100	100
	akute Hepatitis (klin. ges.)	27	56	74
	chronische Hepatitis	0	0	0
	Leberzirrhose mit Cholest.	9	100	89
	Leberzirrhose ohne Cholest.	10	0	10

Übersicht über sämtliche Verschlüsse in Bezug auf ihre Ergebnisse von LP-X- und LP-E-Test

Wie in Tabelle 9 deutlich wird, stimmen die Ergebnisse von LP-X- und LP-E-Test nicht in allen Fällen überein. Bemerkenswert ist, daß bei den intrahepatischen Verschlüssen größere Abweichungen der Ergebnisse beider Testverfahren bestehen als bei den extrahepatischen. Beim extrahepatischen Verschluß handelt es sich um eine massive Leberfunktionsstörung, die vielleicht eher mit der "Alles oder Nichts-Regel" vergleichbar ist, als die Störung beim intrahepatischen Verschluß, die eine größere Differenzierung in Bezug auf den Grad des Verschlusses gibt (s. Seite 34).

Die wenigen unterschiedlichen Testergebnisse beider Verfahren sind ein Indiz dafür, daß LP-X und LP-E nicht den gleichen Entstehungsmechanismus haben. Möglicherweise ist in der Remissionsphase eines Patienten das Ergebnis des einen Tests gerade nicht mehr positiv, das des anderen aber gerade noch.

Besonders interessant ist ein Fall, bei dem trotz anatomisch nachgewiesenen Verschlusses der extrahepatischen Gallenwege LP-X- und LP-E-Test negativ waren. Bei der Operation wurde eine mit mehreren Konkrementen gefüllte Gallenblase und eine Papillenstenose festgestellt. Laborwerte: GOT 88, GPT 11o, Ap 22o (mU/ml). Aus dieser Tatsache lassen sich entgegengesetzte Schlüsse ziehen. Einerseits könnte man die Cholestasespezifität von LP-X und LP-E in Frage stellen, andererseits könnte man vermuten, daß es sich um einen inkompletten Verschluß gehandelt haben mag und daß die Leberzellschädigung und damit die Leberfunktionsstörung kein solches Ausmaß erreicht hat, daß abnorme Lipoproteine im Plasma aufgetreten wären.

Ähnlich ist es in der letzten Gruppe der extrahepatischen Verschlüsse: Verschluß mit Fistelbildung oder Perforation. In allen drei Fällen reagierte der LP-E-Test nicht, der LP-X-Test zeigte jedoch einmal ein positives Ergebnis.

Neuere Untersuchungen von HAMILTON et al. (16, 17) weisen nach, daß die High-Density-Lipoproteine in der Leber gebildet werden. Diese Lipoproteine entstehen zunächst als Vorstufe der HDL und sind das bevorzugte Substrat der LCAT.

Einige Eigenschaften dieser HDL-Vorstufe zeigen auffällige Ähnlichkeiten mit dem LP-E wie z.B. Größe, Gestalt und elektrophoretisches Verhalten, was zu der Vermutung Anlaß gibt, LP-E und die HDL-Vorstufe könnten identisch sein. Diese Vermutung wird dadurch gestützt, daß LP-E sowohl bei familiärem -, wie auch bei sekundärem LCAT-Mangel im Serum nachzuweisen ist, nicht aber im Normalserum auftritt, d.h. bei ungestörter LCAT-Aktivität würden HDL gebildet, bei LCAT-Mangel käme es zu einer Ansammlung der HDL-Vorstufe und folglich zum Auftreten von LP-E. Entscheidend für das Erscheinen von LP-E wären somit Umfang und Ausmaß der Leberzellschädigung und als Folge davon eine Einschränkung der LCAT-Aktivität, bzw. ein LCAT-Mangel.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß bei starker Leberfunktionsstörung, wie es beim Verschlußikterus der Fall ist, LP-E in 94% der Fälle nachzuweisen war.
Bei 100% der Hepatitiden mit histologisch gesicherter Cholestase konnte LP-E im Serum nachgewiesen werden. Dem Ausmaß der Leberfunktionsstörung entsprechend trat LP-E bei Fällen von Hepatitis ohne histologisch nachgewiesene Cholestase auf. Entsprechendes konnten wir in der Gruppe der Leberzirrhosen feststellen.

F Zusammenfassung

Der erste Teil dieser Arbeit enthält den Vergleich zweier Methoden zum Nachweis des abnormen Lipoproteins-X (LP-X). In 97,9% der Fälle stimmten die Ergebnisse des herkömmlichen immunologischen LP-X-Tests mit denen des neu entwickelten, nichtimmunologischen LP-X-Nachweises überein.

Das Prinzip des nichtimmunologischen LP-X-Tests beruht auf einer Anfärbung des Lipidanteils von LP-X. Bei der elektrophoretischen Auftrennung der Lipoproteine ist das Ergebnis des in charakteristischer Weise kathodenwärts wandernden LP-X sofort abzulesen. Auf diese Weise wird der LP-X-Test nicht nur erheblich vereinfacht und verkürzt, sondern auch wesentlich billiger.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde die Spezifität des LP-X-Tests geprüft durch Serumuntersuchung von Patienten, bei denen eine Cholestase anatomisch und/oder histologisch gesichert, bzw. ausgeschlossen werden konnte.

In analoger Weise wurde der LP-E-Test durchgeführt und die Testergebnisse beider Verfahren miteinander verglichen. Es zeigte sich dabei, daß bei den extrahepatischen Verschlüssen LP-X- und LP-E-Test in 94% der Fälle übereinstimmend positive Ergebnisse aufwiesen. Bei den intrahepatischen Verschlüssen mit histologischem Befund bestand in 91% der Fälle Übereinstimmung beider Testverfahren.

Literaturverzeichnis

1.	AHRENS, E.H. Jr. and KUNKEL, H.G.	The stabilization of serum lipid emulsions by serum phospholipids. (1949)
2.	AHRENS, E.H. Jr. and KUNKEL, H.G.	The relationship between serum lipids ans skin xanthoma in 18 patients with primary biliary cirrhosis. J.Clin.Invest. 28: 1565 (1969)
3.	ALAUPOVIC, P., SEIDEL, D., Mc CONATHY, W.J., FURMAN, R.H.	Identification of the protein moiety of an abnormal human plasma low-density lipoprotein in obstructive jaundice. FEBS letters 4, 113-116 (1969)
3a.	ALAUPOVIC, P.	Progr. Biochem. Pharmacol. 4, 91-1o9 (1968)
4.	BARR, D.P., RUSS, E.M. and EDER, H.A.	Protein-lipid-relationships in human plasma II. In atherosclerosis and related conditions. Amer.J.Med. 11:48o (1951)
5.	COHN, E.J., GURD, F.R.N., SURGENOR, D.M., BARNES, B.A. BROWN, R., DEROUAUX, G., GILLESPIE, J.M., KAHNT, F.W., LEVER, W.F., LIN, C.H., MITTELMAN, D., MONTON, R.F., SCHMID, K., and UROMA, E.	A system for the separation of the components of human blood: Quantitative procedures for the separati of the protein components of human plasma. J.Amer.Chem.Soc. 72:465 (195o)

6. EDER, H.A. and RUSS, E.M.
Plasma-protein relationship in acute hepatitis
J.Clin.Invest 32, 564 (1953)

7. EDER, H.A., RUSS, E.M., PRITCHETT, R.A.R. WILBER, M.M., and BARR, D.P.
Protein-lipid relationships in human plasma: in biliary cirrhosis, obstructive jaundice, and acute hepatitis.
J.Clin.Invest 34, 1147 (1955)

8. EPSTEIN, E.Z.
Cholesterol of the blood plasma in hepatic and biliary diseases.
Arch.Intern.Med. 5o:2o3 (1932)

9. FEIGL, J.
Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie.III Fette und Lipide des Blutes. Chemische Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung und Charakteristik spezifischer Lipämien.
Biochem.Z. 86:1 (1918)

1o. FISCHER, M., FALKENSAMMER, Ch., BAROUCH, G., WUKETICH, St., KRONBERGER, O. und SCHNACK, H.
Zur Diagnostik der Cholestase: Lipoprotein X (LP-X)
Wiener Klinische Wochenschrift 87 (16) 524-531 (1975)

11. FLINT, A., Jr.
Experimental researches into a new excretory function of the liver, consisting in the removal of cholesterine from the blood and its discharge from the body in the form of stercorine
Am.J.Med.Sci. 44:3o5 (1862)

12. FURMANN, R.H. and CONRAD, L.L.
Ultracentrifugal characterization of the lipoprotein spectrum in obstructive jaundice: studies of serum lipid relationships in intra- and extrahepatic biliary obstruction.
J.Clin.Invest. 36:713 (1957)

13. FURMANN, R.H., CONRAD, L.L. and HOWARD, R.P.
A serum lipoprotein pattern characteristic of biliary obstruction, with some comments on "jaundice due to methyltestosterone".
Circulation 1o:586 (1954)

14. GLOMSET, J.A.
The plasma lecithin: Cholesterol-acyl transferase reaction.
J.Lipid Res. 9, 155 (1968)

15. HAMILTON, R.L.
HAVEL, R.J.
KANE, J.P.
BLAUROCK, A.E. and
SATA, T.
Cholestasis: Lamellar Structure of the Abnormal Human Serum Lipoprotein
Science, 3o.April 1971, Volume 172 pp 475-478

16. HAMILTON, R.L.
KAYDEN, H.J.
The Liver And The Formation Of Normal And Abnormal Plasma Lipoproteins
The Liver: Normal And Abnormal Function (Part A)
Vol. 5 In The Biologic Chemistry of Discense
Chap. 15, pp 532-572
Marcel Dekker, N.Y. , 1974

17. HAMILTON, R.L. HAVEL,R.J. and WILLIAMS, M.C.
Fed.Proc.Fed.Amer.Soc.Exp. Biol.Alestr., 33, 351 (1974)

18. HAVEL, R.J., EDER, H.A. and BRAGDON, J.H.
The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum.
J.Clin.Invest. 34:1345 (1955)

19. KUNKEL, H.G. and AHRENS, E.H., Jr.
The relationship between serum lipids and the elektrophoretic pattern, with particular reference to patients with primary biliary cirrhosis.
J.Clin.Invest. 28: 1575 (1949)

2o. KUNKEL, H.G. and SLATER, R.J.
Lipoprotein patterns of serum obtained by zone electrophoresis
J.Clin.Invest. 31: 677 (1952)

21. MAN, E.B., KASTIN, B.L. DURLACHER, S.H. and PETERS, J.P.
The lipids of serum and liver in patients with hepatic diseases.
J.Clin.Invest. 24:623 (1945)

22. NORUM, K.R., GLOMSET, J.A. NICHOLS, A.U., FORTE, T.
Plasma lipoproteins in familial lecithin-cholesterol acyl transferase deficiency: physical and chemical studies of low and high density lipoproteins.
J.Clin.Invest. 5o, 1131 (1971)

23. NORUM, K.R., GLOMSET, J.A. GJONE, E.
Familial lecithin: cholesterol acyl transferase deficiency. In: The Metabolic Basis of Iherited Disease (Ed.by Stanbury Wyngaarden, Fredderickson)
Mc Graw-Hill, New York, p 531-544 (1972)

24. NORUM, K.R., GLOMSET, J.A. NICHOLS, A.U., FORTE, T.
Plasma lipoprotein in familial lecithin-cholesterol-acyl transferase deficiency : Physical and chemical studies of low and high density lipoproteins.
J.Clin.Invest. 5o, 1131 (1971)

25. PETEK, W.G., KOSTNER,G., HOLASEK, A.
Untersuchungen zur Methodik der immunologischen Lipoprotein-X-(LP-X)-Bestimmung
Z.Klin.Chem.K.in Biochemie
11.Jg. S.415-42o (1973)

26. PETERSEN, V.P.
The individual plasma phospholipids in acute hepatitis.
Acta Med.Scand. 144:333 (1953)

27. PEZOLD, F.A. — Lipide und Lipoproteide im Blutplasma (Springer: Berlin, Heidelberg, New York, 1961)

28. PHILLIPS, G.B. — The lipid composition of serum in patients with liver diseases J.Clin.Invest. 139:1639 (196o)

29. PIEREE, F.T., Jr. KIMMEL, J.R., BURNS, T.W. — Lipoproteins in infections and serum hepatitis. Metabolisme 3, 228 (1954)

3o. ROTHSCHILD, M.A., and FELSEN, J. — The cholesterol content of the blood in various hepatic conditions. Arch.Intern.Med. 24:52o (1919)

31. RUSS, E.M., RAYMUNT, J. BARR, D.P. — Lipoproteins in primary biliary cirrhosis. J.Clin.Invest. 35:133 (1956)

32. SCHEIDEGGER, J.J. — Int.Arch. Allergy Appl. Immunol. 7, 1o3-11o (1955)

33. SCHMID, M. — Physiologische Grundlagen. Klinische Pathophysiologie, Herausgeg. von W.Siegenthaler 2. Auflage 1973, S.753

34. SCHMITZ, J. und KAHLKE, W.

Das Verhalten der Serumproteine und -lipide bei Hepatitis. Dtsch.Med.Wochenschrift 98.Jahrgang, 31.Dez. 1973, Nr.51, S. 2436-2439

35. SEIDEL, D., ALAUPOVIC, P. FURMAN, R.H.

Fortschritte in der Analyse der Plasmalipoproteine. Eine neue Möglichkeit zur Differentialdiagnose des Ikterus. Klin.Wschr. 48:1 (197o)

36. SEIDEL, D. ALAUPOVIC, P. FURMAN, R.H.

A lipoprotein characterizing obstructive jaundice. I. Method for quantitative separation and identification of lipoproteins in jaundiced subjects. J.Clin.Invest. 48: 1211 (1969)

37. SEIDEL, D. ALAUPOVIC, P.

Ein abnormes Low-density -Lipoprotein bei Cholestase. I.Isolierung und Charakterisierung. Dtsch.med.Wschr. 95: 1774 (197o)

38. SEIDEL, D., SCHMITT, E.A. und ALAUPOVIC,P.

Ein abnormes L-D-Lipoprotein bei Cholestase. II. Bedeutung in der Differentialdiagnose des Ikterus. Dtsche.Med.Wschr. 95:18o5 (197o)

39. SEIDEL, D., GRETEN, H. GEISEN, H.P., WENGLER,H. WIELAND, H.

Further aspects on the characterization of high and very low density lipoproteins in patients with liver disease. Europ.J.clin.Invest 2, 369 (1972)

4o. SEIDEL, D.
AGOSTINI, B., MÜLLER,P.
Structure of an abnormal plasma lipoprotein (LP-X) characterizing obstructive jaundice.
Biochim.Biophys.Acta 26o, 146-152 (1972)

41. SEIDEL, D.
AGOSTINI, B., MÜLLER, P.
Structure of an abnormal plasma lipoprotein (LP-X) characterizing obstructive jaundice.
Biochim.Biophys.Acta 26o, 146-152 (1972)

42. SMETANA, H.F.
Hepatitis frontiers.
Henry Ford Hospital Int.Symp.
77 (1957)

43. SMITH, S.C., SCHEIG, R.L.
KLABKIN, G., LEVY, R.J.
Lipoprotein abnormalities in liver disease.
Clin.Res. 15, 33o (1967)

44. SWITZER, S.
Plasma lipoproteins in liver disease. I. Immunologically distinct low-density lipoproteins in patients with biliary obstruction.
J.Clin.Invest. 46:1855 (1967)

45. TANNHAUSER, S.J. and
SCHABER, H.
Über die Beziehungen des Gleichgewichts Cholesterin-Cholesterinester im Blut und Serum zur Leberfunktion.
Klin.Wochenschr. 5: 252 (1926)

46. UTERMANN, G., MENZEL, H.-J., LANGER, K.H. — On the Polypeptide Composition of an Abnormal High-Density Lipoprotein (LP-E) occuring in LCAT-Deficient Plasma

47. UTERMANN, G. — Institut für Humangenetik der Philipps-Universität Marburg/Lahn
Isolation of Apoprotein E.

48. VERGANI, C., PIETROGRANDE, M., GRONDONCE, M.C. — Study Of The Abnormal Lipoprotein-X Obstructive And Non-Obstructive-Jaundice.
Clinica Chimica Acta, 48, 243-248 (1973)

49. WILDHIRT, E. — Cholestatischer Ikterus. Ergebnisse innerer Med. Kinderheilkunde 24, 8o (1966)

5o. ZIEVE, L. — Studies of liver function-tests. III.Dependence of percentage cholesterol esters upon the degree of jaundice.
J.Lab.Clin. Med. 42:134 (1953)

Lebenslauf

Am 1o. September 1947 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Karl-Heinz Maaß und dessen Ehefrau Sigrid von Busekist in Stuttgart geboren.

Von 1954 - 1958 besuchte ich die Grundschule in Korntal, ab 1958 das Gymnasium Korntal und legte dort 1967 die Reifeprüfung ab.

Nach 2 Semestern Biologie in Marburg wurde ich Ende 1968 eingezogen. Bei der Sanitätstruppe in Würzburg leistete ich meinen Wehrdienst ab.

Im WS 197o begann ich das Studium der Zahnheilkunde in Marburg und schloß es im WS 1975 mit dem Staatsexamen ab.

1976 arbeitete ich als Assistenzzahnarzt in einer Praxis in der Nähe Marburgs, 1977 übersiedelte ich nach München und arbeite dort ebenfalls als Assistenzzahnarzt.

Meine akademischen Lehrer waren die Professoren und Dozenten:

Ahrens, Amon, Aurich, Aziz, Bernhardt, Bock, Bode, Braasch, Castenholz, Dehnicke, Dimroth, Haberich, Hennis, Hensel, Hering, Heuser, Janke, Karlson, Keil, Koecke, Lauer, Niemeyer, Nöth, Petry, Pfütz, Portig, Richter, Rohen, Rupec, Schienbein, Schiff, Schmidt, Schmitz-Moormann, Schnell, Seidel, Spröggel, Stutte, Utermann, Wendt.